

**(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)**

**(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual**
Oficina internacional



**(43) Fecha de publicación internacional
16 de Junio de 2005 (16.06.2005)**

PCT

**(10) Número de Publicación Internacional
WO 2005/053505 A3**

- (51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: C12N 15/30,**
C07K 14/44, G01N 33/569
- (21) Número de la solicitud internacional:**
PCT/ES2004/0000529
- (22) Fecha de presentación internacional:**
26 de Noviembre de 2004 (26.11.2004)
- (25) Idioma de presentación:** español
- (26) Idioma de publicación:** español
- (30) Datos relativos a la prioridad:**
P200302869
4 de Diciembre de 2003 (04.12.2003) ES

- (81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección nacional admisible):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección regional admisible):** ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional
— antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones

- (88) Fecha de publicación del informe de búsqueda
internacional:** 14 de Julio de 2005

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
[ES/ES]; Rectorado Avenida de Seneca, 2, E-28040 Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): ORTEGA MORA, Luis, Miguel [ES/ES]; Dpto. Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid (ES). **FERNÁNDEZ GARCÍA, Aurora** [ES/ES]; Dpto. Sanidad Animal, Facultad Veterinaria, E-28040 Madrid (ES).

(54) Title: USE OF GENE NCSAG4 FOR THE DIAGNOSIS AND PREVENTION OF NEOSPOROSIS AND AS A MARKER FOR ANALYSIS OF THE PATHOGENESIS

(54) Título: USO DEL GEN NCSAG4 PARA EL DIAGNÓSTICO Y PREVENCIÓN DE LA NEOSPOROSIS, Y COMO MARCADOR PARA EL ANÁLISIS DE LA PATOGENIA

(57) Abstract: The invention relates to gene NcSAG4, the RNA messenger of said gene, the oligonucleotides designed as a function of the nucleotide sequence thereof or any of the fragments of same, and to protein NcSAG4 coded thereby, or any of the recombinant forms of same, expression vectors, and host cells containing same, for the purpose of diagnosis and vaccination for the prevention of neosporosis. The invention also relates to the use thereof as a specific marker of the *N. caninum* bradyzoite stage, for the analysis of the pathogenesis or the effectiveness of vaccines against the establishment of a chronic infection in the intermediate host.

(57) Resumen: La presente invención se refiere al gen NsSAG4, su RNA mensajero, los oligoclúneótidos diseñados en función de su secuencia nucleotídica, o cualquiera de sus fragmentos, así como la proteína NcSAG4 que codifica, o cualquiera de sus formas recombinantes, los vectores de expresión, así como las células hospedadoras que los contengan, para el diagnóstico y la vacunación para la prevención de la neosporosis, así como su uso como marcador específico de la fase de bradizoito de *N. caninum*, para el análisis de la patogenia o de la eficacia de las vacunas frente al establecimiento de la infección crónica en el hospedador intermedio.

WO 2005/053505 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2004/000529

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC⁷ C12N 15/30, C07K 14/44, G01N 33/569

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC⁷ C12N, C07K, G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CIBEPAT, EPODOC, BIOSIS, MEDLINE, EBI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US2003180785 A (KRISHNAN et al.) 25.09.2003. the whole document	1-18
A	SCHARES, G. et al., "Neospora caninum: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies.", EXP. PARASITOL., 1999, Vol. 92, No. 2, pages 109-119, the whole document	1-18
A	FUCHS, N. et al., "Differential expression of cell surface- and dense granule-associated Neospora caninum proteins in tachyzoites and bradyzoites.", J. PARASITOL., 1998, Vol. 84, No. 4, pages 753-758. the whole document	1-18
A	ÖDBERG-FERRAGUT, C. et al., "Molecular cloning of the Toxoplasma gondii SAG4 gene encoding a 18kDa bradyzoite-specific surface protein.", MOL. BIOCHEM. PARASITOL., 1996, Vol. 82, No. 2, pages 237-244. the whole document	1-18

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 May 2005 (04.05.2005)

Date of mailing of the international search report

11 May 2005 (11.05.2005)

Name and mailing address of the ISA/

S.P.T.O.

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2004/000529

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BOHNE, W. et al., "Bradyzoite-specific genes.", CURR. TOP. MICROBIOL. IMMUNOL., 1996, Vol. 219, pages 81-91. the whole document	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/ ES 2004/000529

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US2003180785-A1	25-09-2003	CA2264260-A1 AU2243799-A CN1232087-A EP0953641-A2A3 JP11332583-A BR9902019-A NZ334839-A ZA9902309-A EP1221487-A2A3 EP1221486-A2A3 EP1221485-A2A3 AU759103-B2 US6600027-B1	26-09-1999 07-10-1999 20-10-1999 03-11-1999 07-12-1999 02-05-2000 25-08-2000 10-10-2000 10-07-2002 10-07-2002 10-07-2002 03-04-2003 29-07-2003

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ ES 2004/000529

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

CIP⁷ C12N 15/30, C07K 14/44, G01N 33/569

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

CIP⁷ C12N, C07K, G01N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

CIBEPAT, EPODOC, BIOSIS, MEDLINE, EBI

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	US2003180785 A (KRISHNAN et al.) 25.09.2003. Ver todo el documento.	1-18
A	SCHARES, G. et al., "Neospora caninum: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies.", EXP. PARASITOL., 1999, Vol. 92, No. 2, páginas 109-119. Ver todo el documento.	1-18
A	FUCHS, N. et al., "Differential expression of cell surface- and dense granule-associated Neospora caninum proteins in tachyzoites and bradyzoites.", J. PARASITOL., 1998, Vol. 84, No. 4, páginas 753-758. Ver todo el documento.	1-18
A	ÖDBERG-FERRAGUT, C. et al., "Molecular cloning of the Toxoplasma gondii SAG4 gene encoding a 18kDa bradyzoite-specific surface protein.", MOL. BIOCHEM. PARASITOL., 1996, Vol. 82, No. 2, páginas 237-244. Ver todo el documento.	1-18

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.		documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.		documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"X"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	"Y"	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	"&"	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.

04 mayo 2005 (04.05.2005)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

11 MAY 2005 11.05.2005

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M.

Funcionario autorizado

J.L. Vizán Arroyo

C/Panamá 1, 28071 Madrid, España.

Nº de teléfono + 34 91 349 55 24

Nº de fax 34 91 349 5304

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

icitud internacional nº

PCT/ ES 2004/000529

C (Continuación).

DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	BOHNE, W. et al., "Bradyzoite-specific genes.", CURR. TOP. MICROBIOL. IMMUNOL., 1996, Vol. 219, páginas 81-91. Ver todo el documento.	1-18

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 2004/000529

Recuadro II Observaciones cuando se estime que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda (Continuación del punto 2 de la primera hoja)

De conformidad con el artículo 17(2)(a), algunas reivindicaciones no han podido ser objeto de búsqueda por los siguientes motivos:

1. Las reivindicaciones nºs:
se refieren a un objeto con respecto al cual esta Administración no está obligada a proceder a la búsqueda, a saber:

2. Las reivindicaciones nºs: 4 (en parte), 9 (en parte)
se refieren a elementos de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos, de tal modo que no pueda efectuarse una búsqueda provechosa, concretamente:

VER HOJA ADICIONAL PCT/ISA/210

3. Las reivindicaciones nºs:
son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de conformidad con los párrafos segundo y tercero de la regla 6.4(a).

Recuadro III Observaciones cuando falta unidad de invención (Continuación del punto 3 de la primera hoja)

La Administración encargada de la Búsqueda Internacional ha detectado varias invenciones en la presente solicitud internacional, a saber:

1. Dado que todas las tasas adicionales han sido satisfechas por el solicitante dentro del plazo, el presente informe de búsqueda internacional comprende todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda.

2. Dado que todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda pueden serlo sin un esfuerzo particular que justifique una tasa adicional, esta Administración no ha invitado al pago de ninguna tasa de esta naturaleza

3. Dado que tan sólo una parte de las tasas adicionales solicitadas ha sido satisfecha dentro del plazo por el solicitante, el presente informe de búsqueda internacional comprende solamente aquellas reivindicaciones respecto de las cuales han sido satisfechas las tasas, concretamente las reivindicaciones nºs:

4. Ninguna de las tasas adicionales solicitadas ha sido satisfecha por el solicitante dentro de plazo. En consecuencia, el presente informe de búsqueda internacional se limita a la invención mencionada en primer término en las reivindicaciones, cubierta por las reivindicaciones nºs:

Indicación en cuanto a la protesta

- Las tasas adicionales han sido acompañadas de una protesta por parte del solicitante.
- El pago de las tasas adicionales no ha sido acompañado de ninguna protesta.

La administración de Búsqueda Internacional ha detectado los siguiente grupos de invenciones:

1. Las reivindicaciones nºs: 4 (en parte), 9 (en parte).
 - 1.1. La reivindicación 4 se refiere a un número extremadamente grande de posibles moléculas polinucleotídica. De hecho, la reivindicación contiene tantas posibles secuencias nucleotídicas que se produce una falta de claridad (y concisión), entendida ésta dentro del significado del artículo 6 PCT, hasta tal punto que resulta imposible realizar una búsqueda provechosa de la reivindicación. En consecuencia, la búsqueda se ha limitado al conjunto de secuencias constituido por el gen *NcSAG4* de *Neospora caninum* (SEQ ID No. 9), por secuencias homólogas a *NcSAG4* (SEQ ID No. 9) que codifican el antígeno *NcSAG4* y por fragmentos de *NcSAG4* (SEQ ID No. 9) que codifican polipéptidos que conservan las características antigénicas de *NcSAG4*.
 - 1.2. La reivindicación 9 (en parte) se refiere en sus apartados b), c) y d) a un número extremadamente grande de posibles moléculas polipeptídicas. De hecho, la reivindicación contiene tantas posibles polipéptidos que se produce una falta de claridad (y concisión), entendida ésta dentro del significado del artículo 6 PCT, hasta tal punto que resulta imposible realizar una búsqueda provechosa de la reivindicación. En consecuencia, la búsqueda se ha limitado al conjunto de secuencias polipeptídicas constituido por la proteína antigénica *NcSAG4* de *Neospora caninum* (SEQ ID No. 10), por secuencias modificadas química o enzimáticamente derivadas de homólogas a la proteína *NcSAG4* (SEQ ID No. 10) que conservan sus características antigénicas, por polipéptidos derivados de *NcSAG4* (SEQ ID No. 10) que conservan sus características antigénicas y por proteínas recombinantes que incluyen *NcSAG4* (SEQ ID No. 10) o polipéptidos derivados de *NcSAG4* (SEQ ID No. 10) que conservan sus características antigénicas.
 - 1.3. El solicitante debe tener en cuenta el hecho de que las reivindicaciones, o partes de reivindicaciones, relacionadas con invenciones con respecto a las cuales no se ha establecido informe internacional de búsqueda no tienen por qué ser objeto de examen internacional preliminar (Regla 66.1(e) PCT). Se informa al solicitante de que la OEPM cuando actúa como Autoridad Internacional de Examen Preliminar normalmente no realiza el examen preliminar de aquellas materias que no han sido buscadas. Es el caso indistintamente de si las reivindicaciones son modificadas tras la recepción del informe de búsqueda o durante cualquier procedimiento del Capítulo II.

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

información relativa a miembro de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 2004/000529

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
US2003180785-A1	25-09-2003	CA2264260-A1 AU2243799-A CN1232087-A EP0953641-A2A3 JP11332583-A BR9902019-A NZ334839-A ZA9902309-A EP1221487-A2A3 EP1221486-A2A3 EP1221485-A2A3 AU759103-B2 US6600027-B1	26-09-1999 07-10-1999 20-10-1999 03-11-1999 07-12-1999 02-05-2000 25-08-2000 10-10-2000 10-07-2002 10-07-2002 10-07-2002 03-04-2003 29-07-2003